微生物糖化法を高効率化させる新規のキシラン糖化菌

リグノセルロースのバイオマス利用においてセルロース・キシランの安価で効率的な糖化法は重要な技術である。石垣島の堆肥から新たに見出した新属新種の好熱嫌気性細菌 *Insulambacter thermoxylanivorax* は高効率にキシランを分解する。微生物糖化法で用いるセルロース糖化能の高い *Clostridium thermocellum* と本菌を共培養すると、キシランを多く含むバイオマスの糖化を向上させる。

キーワード:バイオマス、キシラン、微生物糖化、セルロース

A02 (分類:研究)

背景・ねらい

農業生産により副次的に生じる農産廃棄物の多くは、 リグノセルロースと呼ばれるバイオマスであり、主にセルロー スやヘミセルロースで構成される。リグノセルロースバイオマ スは地球上最も豊富な再生可能資源として注目されて おり、その有効活用が求められている。しかし、効率的で 安価なバイオマスの糖化技術の開発が課題であり、国 際農研では、市販セルロース糖化酵素(セルラーゼ)に 依存せず、糖化微生物の培養だけで糖化することができ る「微生物糖化法」(令和4年度研究成果情報「セル ラーゼ酵素を使用せずに「微生物の培養だけ」でセルロー スを糖化する技術 I) を開発している。一方、農産廃棄 物によっては、セルロースだけでなくキシランを多く含むバイ オマスもある。キシランはセルラーゼ酵素の糖化を阻害す るため、微生物糖化法へ組み込めるキシラン糖化微生 物の探索とそれを使った糖化技術の開発が求められて いる。

成果の内容・特徴

- 1. キシランを唯一の炭素源とする培地を用いて、石垣島の堆肥から嫌気環境下 60°Cにてキシランを効率的に糖化させる微生物をスクリーニングし、DA-C8 菌を得る。本菌は、既知の Xylanibacillus composti と同じ系統に属するが、デジタル DNA-DNA ハイブリダイゼーション、平均アミノ酸配列同一性値、主要極性脂質組成等の遺伝学的、化学分類学的および系統学的解析から、新たに新属新種 Insulambacter thermoxylanivoraxに命名する(図 1)。
- 2. *I. thermoxylanivorax* DA-C8 は、キシランを完全に糖化できるだけでなく(図 2)、アラビノキシランやガラクタンなど、キシラン以外のヘミセルロースも糖化する。また生育温度 37~60°C(至適温度 55°C)や生育pH4.0~11.0(至適pH9.0)と広範囲な温度やpHでも生育する。
- 3. キシランが比較的多く含有されるオイルパームヤシ殻 (EFB) 繊維を用いた微生物糖化試験では、セルロー

ス糖化能の高い Clostridium thermocellum の糖化能は単独で 24.7%、I. thermoxylanivorax DA-C8 では13.2%であるのに対し、I. thermoxylanivorax DA-C8 とC. thermocellum と共培養した場合の糖化能は58.1%であり、極めて高い糖化効率を示す。これは各々単独の場合と比較し、2 倍~4 倍の糖化能力の向上が認められる(図 3)。

4. *I. thermoxylanivorax* DA-C8 は、基準株として理研バイオリソースセンター(JCM 34211^T)とドイツ微生物細胞培養コレクションセンター(DSM 111723^T)に寄託されており、分譲が可能である。

成果の活用面・留意点

- 1. EFB 以外でも、トウモロコシ茎・葉・芯、稲わらなどキシランの多く含まれる繊維において、*C. thermocellum* と本菌を共培養すると微生物糖化法の糖化効率の向上が認められる。
- 2. I. thermoxylanivorax DA-C8 は、嫌気条件下だけでなく、好気条件でも培養することが出来るが、好気培養条件ではキシラン糖化酵素遺伝子の著しい発現抑制が認められ、酸素による代謝制御を受ける*(発表論文 2)を参照)。

その他

予算区分:交付金プロ[カーボンリサイクル(第 5 期)]、外 部資金[SATREPS]

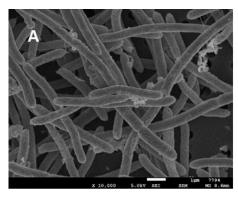
研究実施期間:2021~2023 年度

研究担当者:鵜家綾香(生物資源・利用領域)、Chhe, C. (筑波大(現カンボジア王立農業大学))、小杉昭彦(生物資源・利用領域)

発表論文等:1) Chhe et al. (2021) Characterization of a thermophilic facultatively anaerobic bacterium *Paenibacillus* sp. strain DA-C8 that exhibits xylan degradation under anaerobic conditions. *J. Biotechnol.* 342: 64–71. https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.10.008

2) Chhe et al. (2023) *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 73: 005724. https://doi.org/10.1099/ijsem.0.005724





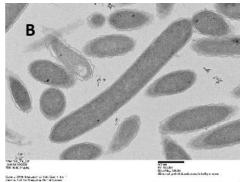


図 1 キシロース炭素源培地で培養した I. thermoxylanivorax DA-C8 株の細胞の形態

A. *I. thermoxylanivorax* DA-C8 の走査型電子顕微鏡像、白いスケールバーは 1 µm。B. *I. thermoxylanivorax* DA-C8 株の薄切片の透過型電子顕微鏡像、黒いスケールバーは 0.4 µm。

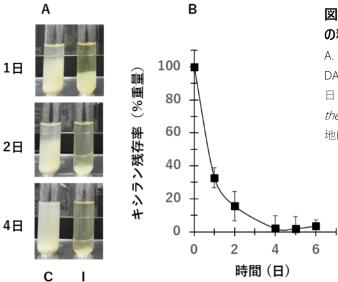


図 2 *I. thermoxylanivorax* DA-C8 によるキシラン の糖化能

A. 1% キシラン炭素源培地における *I. thermoxylanivorax* DA-C8 のキシラン糖化の様子。 A. 菌接種後、1 日目、2 日目、4 日目の様子。C は未接種、I は *I. thermoxylanivorax* DA-C8 を接種。B. 1%キシラン炭素源培地における経時的なキシランの残存率を示す。

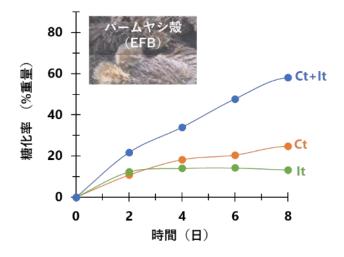


図 3 *I. thermoxylanivorax* DA-C8 と *C. thermocellum* の共培養による微生物糖化

1% EFB 繊維を含む培地で微生物糖化を測定。微生物糖化法で利用されるセルロース糖化能が高い *C. thermocellum* 単独(Ct)、*I. thermoxylanivorax* DA-C8 単独(It)、*C. thermocellum* と、*I. thermoxylanivorax* DA-C8 との共培養(Ct+It)における糖化能力の比較。